

METAIS PESADOS, DENSIDADE E ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO CONTAMINADO POR REJEITOS DE INDÚSTRIA DE ZINCO⁽¹⁾

H. E. DIAS-JÚNIOR⁽²⁾, F. M. S. MOREIRA⁽³⁾,
J. O. SIQUEIRA⁽³⁾ & R. SILVA⁽⁴⁾

RESUMO

As atividades relacionadas com mineração e indústria metalúrgica são responsáveis pela poluição de extensas áreas de solo em todo o mundo, sendo seus efeitos ainda pouco conhecidos nas condições brasileiras. No presente trabalho, os teores totais e solúveis em água de metais pesados, a densidade e a atividade microbiana foram avaliados em 1996, em sete locais de uma área de deposição de rejeitos da industrialização de zinco, em elevado estágio de degradação, e num local fora da área contaminada, considerado como referência, no estado de Minas Gerais. Todos os locais contaminados apresentaram elevados teores de metais pesados totais e solúveis em água, atingindo, respectivamente, os seguintes valores máximos, em mg kg⁻¹: 11.969 e 726 de Zn; 109 e 18 de Cd; 1.016 e 0 de Pb e 887 e 8 de Cu. Todas as características biológicas avaliadas foram afetadas pelos elevados teores de metais com exceção do número de amonificadores. O C-biomassa apresentou redução acima de 80% em quatro locais contaminados em relação ao local fora da área contaminada. A respiração basal do solo foi maior no local contaminado coberto com *Andropogon* sp. e menor nos sítios sem vegetação. O número de actinomicetos e de fungos cultiváveis foi menos afetado pela contaminação que o número total de bactérias. *Azospirillum* spp. foram detectados apenas no local de referência. Oxidantes de amônio foram verificados em somente dois locais que continham vegetação, enquanto os oxidantes de nitrito foram detectados na maioria dos locais amostrados. Verificou-se a tendência de maior densidade e atividade microbiana nos locais contaminados e com algum tipo de vegetação. A concentração total e solúvel de Zn, de Cd e de Cu correlacionou-se fracamente com as características biológicas, exceto para o qCO_2 , o qual se mostrou promissor como indicador da contaminação com esses metais. Os dados indicaram uma interação químico-biológica complexa em solos altamente contaminados por metais pesados.

Termos de indexação: poluição do solo, bactérias, fungos, actinomicetos, biomassa microbiana.

⁽¹⁾ Trabalho da Tese de Mestrado do primeiro autor apresentada ao Departamento de Ciência do Solo - DCS, Universidade Federal de Lavras - UFLA. Parcialmente financiado pelo convênio FAEPE/CMM e FAPEMIG. Recebido para publicação em março de 1997 e aprovado em setembro de 1998.

⁽²⁾ Aluno de Pós-Graduação do Departamento de Ciência do Solo, UFLA, Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras (MG). Bolsista do CNPq.

⁽³⁾ Professor do Departamento de Ciência do Solo, UFLA. Bolsista do CNPq.

⁽⁴⁾ Professor do Departamento de Biologia, UFLA.

SUMMARY: *HEAVY METALS, MICROBIAL DENSITY AND ACTIVITY IN A SOIL CONTAMINATED BY WASTES FROM A ZINC INDUSTRY*

*Mining and metallurgical activities are responsible for pollution of extensive soil areas around the world, with their effects not being well known under Brazilian conditions. Total and water soluble contents of heavy metals and microbial density and activity were evaluated, in this 1996 study using samples from seven sites located in a dumping site of a zinc industry in the state of Minas Gerais, Brazil. Additionally, a non-contaminated site was used as reference. All contaminated sites presented high total and soluble levels reaching, in mg kg⁻¹, 11969 and 726 of Zn, 109 and 18 of Cd, 1016 and 0 of Pb and 887 and 8 of Cu, respectively. All biological characteristics assessed were affected by the excess of metals, except the number of ammonifiers. The C-biomass was reduced by more than 80 % in four contaminated sites as compared to the non-contaminated site. Soil basal respiration was maximum when *Andropogon sp* was the dominant plant cover and minimal in vegetation-free contaminated sites. Counts of culturable fungi and actinomycetes were less affected by contamination as compared to bacteria. *Azospirillum spp.* were only detected in the non-contaminated site. Ammonium oxidizers were found only in two sites with vegetation, whereas nitrite oxidizers were found in most sites. Microbial density and activity tended to be higher in contaminated sites covered with some type of vegetation than in those sites without vegetation. Total and water soluble contents of Zn, Cd and Cu were only slightly correlated with the biological characteristics, except for qCO₂ which showed to be a good indicator of soil contamination with these metals. The available data indicate a complex chemical-biological interaction in soils highly contaminated with heavy metals.*

Index terms: soil pollution, bacteria, fungi, actinomycetes, microbial biomass.

INTRODUÇÃO

Atualmente, um dos grandes problemas ambientais é a contaminação do solo em áreas de mineração e processamento de metais onde a concentração desses elementos atinge valores tóxicos às plantas e aos organismos do solo. Entretanto, a maioria dos trabalhos sobre os efeitos dos metais no solo, especialmente dos metais pesados sobre os organismos, enfatiza as plantas e animais em detrimento dos microrganismos e de seus importantes processos biológicos. Além disso, trabalhos sobre a relação metais pesados/microbiota são escassos e os existentes são realizados predominantemente em solos contaminados pela aplicação de resíduos orgânicos industriais ou urbanos, como lodo de esgoto e composto de lixo, sendo raros os estudos em regiões tropicais em áreas de mineração ou processamento de metais. Outro aspecto interessante da interação metal/microbiota do solo é o fato de que os níveis de metais pesados considerados limites permissíveis na Europa pouco consideram a sensibilidade de microrganismos do solo (Lorenz et al., 1992).

Estudos recentes têm revelado efeitos tóxicos significativos de metais pesados, em concentrações próximas ou abaixo dos limites estabelecidos, sobre a população microbiana do solo e em seus processos (Brookes, 1995). Atualmente, considera-se que a diversidade e a atividade microbiana do solo servem de indicativo de sua qualidade, por exercer influência no funcionamento do sistema solo-planta,

especialmente nos ecossistemas naturais, onde a ciclagem de C e de nutrientes e a fertilidade do solo dependem inteiramente dos processos microbianos (Siqueira et al., 1994). Processos como mineralização de materiais orgânicos, amonificação, fixação biológica de N₂, nitrificação, dentre outros, podem ser afetados diretamente pela contaminação com metais ou, indiretamente, pelos efeitos tóxicos desses metais sobre as plantas, causando decréscimo na quantidade de substratos liberados na região rizosférica. Os efeitos desses metais dependerão, entretanto, das características do solo, do tipo e concentração do metal e do número de metais contaminantes e suas interações (Chander & Brookes, 1993; Fließbach et al., 1994; Brookes, 1995).

Grande esforço tem sido feito para obtenção de tecnologia para recuperação de áreas degradadas. No entanto, pouca ou nenhuma atenção tem sido dada à população microbiana desses solos. Para Tate (1985), o sucesso da recuperação dessas áreas depende do desenvolvimento da comunidade microbiana do solo, que pode atuar na sua remediação por meio de processos de imobilização, mobilização e transformação de metais por reações de precipitação extracelular, acumulação intracelular, reações de oxidação e redução, metilação e demetilação, ligação extracelular e complexação (Brierley, 1991). Além disso, características microbiológicas, por serem sensíveis à contaminação com metais pesados, podem ser úteis no monitoramento da poluição de solos (Brookes, 1995).

Este trabalho teve como objetivo avaliar os teores de metais pesados, a densidade e a atividade de microrganismos em amostras de solo de uma área de despejo industrial proveniente de uma unidade de beneficiamento e processamento de zinco em Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODOS

Características dos solos e da vegetação dos locais amostrados

Foram estudadas amostras de solo coletadas em área de rejeitos próxima a uma indústria de zinco da Companhia Mineira de Metais (CMM), localizada em Três Marias (MG). A área, de aproximadamente 18 ha, é remanescente de depósito de minérios de zinco (calamina e willenita), misturado, ao longo de décadas, com resíduos industriais provenientes da extração e industrialização de zinco, apresentando estágio avançado de degradação ambiental.

As amostras foram coletadas em abril de 1996, na profundidade de 0-20 cm, em sete locais da área e em um local adicional localizado a, aproximadamente, 1 km de distância desta, e utilizado como referência. Em cada local, coletaram-se três amostras compostas, consideradas repetições, perfazendo um total de 24. Os diferentes locais amostrados foram selecionados de acordo com sua localização na área e cobertura vegetal, apresentando-se as seguintes características e designações: (1) SV - sem vegetação, correspondendo à frente de escoamento de rejeito, constituído de massa latossólica sem distinção entre horizontes pedogenéticos originais; (2) U - sem vegetação, com rejeitos da unidade de ustulação, constituído de massa latossólica sem distinção entre horizontes pedogenéticos originais; (3) Bd - com vegetação, predominando *Brachiaria decumbens* Stapf. Prain. sobre Latossolo Vermelho-Amarelo (LV) plíntico, sendo as amostras retiradas ao lado de touceiras da gramínea; (4) ATI - com vegetação, onde predominam *Andropogon* sp., *Trema micrantha* (L.) Blum. (trema) e *Inga* sp. (ingá) sobre LV; (5) AC - com vegetação arbustiva típica de cerrado sem gramíneas, sobre LV; (6) Bm1 - com cobertura vegetal de *Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf. (capim-bengo), apresentando fortes sintomas de fitotoxidez (morte acentuada) sobre LV; (7) Bm2 - Local contíguo ao local Bm1, constituído de plantas com sintomas de fitotoxidez atenuados; (8) R - LV cultivado com hortaliças e milho, localizado a 1 km da área avaliada.

Caracterização química e física das amostras de solo

Os materiais de solo em cada local foram caracterizados química e fisicamente, conforme método descrito em EMBRAPA (1979), sendo os

principais resultados apresentados no quadro 1. Fósforo e K foram extraídos pelo extrator Mehlich-1, sendo os teores de P determinados por colorimetria e os de K por fotometria de chama. Cálcio, Mg e Al foram extraídos com KCl 1 mol L⁻¹ e determinados por titulometria. A acidez potencial foi determinada de forma indireta, por meio da solução SMP e quantificada em potenciômetro. Dos resultados obtidos, calcularam-se os seguintes valores: soma de bases (S), capacidade de troca efetiva (CTC_e), capacidade de troca catiônica total (CTC), saturação por alumínio (m) e saturação por bases (V). O carbono orgânico foi extraído com Na₂Cr₂O₇ 2 mol L⁻¹ + H₂SO₄ 5 mol L⁻¹ e determinado por colorimetria. A concentração total de Cd, Zn, Cu, Pb, Cr e Mn foi obtida por meio de dissolução das amostras de solo por uma mistura concentrada (1:3) de ácido nítrico:ácido clorídrico (*aqua regia*) de acordo com Forster (1995), sendo determinada também a concentração da fração solúvel desses metais mediante extração em água na relação 1:10 (solo:água) com agitação a 200 rpm por 2 horas. Os metais nos extratos foram determinados por espectrometria de emissão atômica com plasma, induzido em argônio (ICP/AES) nos laboratórios da CMM em Três Marias.

Análises microbiológicas

Para o transporte, processamento e armazenamento das amostras, seguiu-se o método descrito por Valsecchi et al. (1995). A contagem do número de unidades formadoras de colônias de bactérias, fungos e actinomicetos foi determinada pelo método da inoculação de suspensões diluídas de solo em meio ágar nutriente, para bactérias (Wollum II, 1982); em meio Martin, com 50 mg L⁻¹ de ampicilina e 50 mg L⁻¹ de estreptomina, para fungos (Wollum II, 1982), e em meio Waksman, com 150 mg L⁻¹ de ciclohexamida, para actinomicetos (Waksman, 1961). A contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC) foi realizada aos 3, 6 e 8 dias de incubação a 27 ± 2°C, para bactérias, fungos e actinomicetos, respectivamente, sendo consideradas as diluições em que se percebeu crescimento de até 300 colônias por placa, para actinomicetos e bactérias, e até 100 colônias, para fungos. O número mais provável (NMP) de microrganismos amonificadores, nitrificadores e de diazotróficos de vida livre (*Azospirillum brasilense*, *A. amazonense* e *A. lipoferum*) foi obtido a partir de suspensões diluídas de solo, inoculadas em meios líquidos (Schmidt & Belser, 1982) e semi-sólidos (Döbereiner, 1978; Magalhães et al. 1983), e o número de células viáveis foi calculado por meio da utilização da tabela de número mais provável (Alexander, 1982).

O carbono da biomassa microbiana foi determinado pelo método da fumigação-extração do carbono orgânico e oxidação do carbono extraído com dicromato de potássio (Joergensen, 1995). A respiração basal foi avaliada pela captura e

Quadro 1. Características químicas e físicas dos materiais de solo dos locais estudados

Local ⁽¹⁾	pH	P	K	Ca	Mg	Al	H + Al	S	CTCe	CTC	Saturação		Carbono orgânico	Areia	Silte	Argila
											Al	Bases				
		- mg dm ⁻³ -				cmol _c dm ⁻³				%		g kg ⁻¹				
SV	5,4	10,0	43,7	0,93	1,70	0,13	3,53	2,74	2,87	6,27	4,7	43,7	8,3	310	400	290
U	4,4	2,0	49,3	4,23	2,37	0,77	5,63	6,73	7,47	12,36	11,4	54,4	3,3	240	500	260
Bd	6,1	16,0	88,7	2,40	1,30	0,10	2,60	3,93	4,03	6,53	2,5	60,2	14,3	260	490	250
ATI	6,5	23,3	71,0	6,57	0,80	0,00	2,13	7,55	7,55	9,68	0,0	78,0	16,3	190	440	370
AC	5,9	29,0	50,0	2,17	1,90	0,03	3,20	4,20	4,23	7,40	0,7	56,8	12,3	290	410	300
Bm1	6,3	20,0	86,3	2,13	1,23	0,03	1,77	3,58	3,61	5,35	0,8	66,9	9,0	350	430	220
Bm2	6,4	23,3	72,0	1,30	1,23	0,03	1,37	2,71	2,74	4,08	1,1	66,4	5,3	510	340	150
R	4,8	4,7	68,7	2,27	1,13	0,90	4,63	3,58	4,48	8,21	25,1	43,6	8,3	140	500	360

⁽¹⁾ SV - Sem vegetação, correspondendo a frente de escoamento de rejeito constituído de massa latossólica sem distinção entre horizontes pedogenéticos originais; U - Sem vegetação, com rejeitos da unidade de ustulação, constituído de massa latossólica sem distinção entre horizontes pedogenéticos originais; Bd - Com vegetação, predominando *Brachiaria decumbens* Stapf. Prain. sobre Latossolo Vermelho-Amarelo (LV) plúntico, sendo as amostras retiradas ao lado de touceiras da gramínea; ATI - Com vegetação onde predominam *Andropogon* sp., *Trema micrantha* (L.) Blum. (trema) e *Inga* sp. (ingá) sobre LV; AC - Com vegetação arbustiva típica de cerrado sem gramíneas, sobre LV; Bm1 - Com cobertura vegetal de *Brachiaria mutica* (Forsk.) Stapf. (capim-bengo) apresentando fortes sintomas de fitotoxidez (morte acentuada), sobre LV; Bm2 - Local contíguo ao local Bm1 porém plantas com sintomas de fitotoxidez atenuados; R - LV cultivado com hortaliças e milho, localizado a 1 km da área avaliada.

determinação do CO₂ evoluído de uma amostra de 50 g de solo seco, incubado à temperatura de 27 ± 2°C, durante 3 dias, conforme Alef (1995b). As determinações de biomassa e de respiração foram realizadas em três repetições, enquanto as demais foram feitas em duas repetições. O quociente metabólico (qCO₂), que representa a quantidade de C-CO₂ evoluída por unidade de C-microbiano, foi calculado conforme Anderson (1994), baseado na relação µg h⁻¹ de C-CO₂/µg g⁻¹ de C-biomassa no solo seco.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, teste de média, análise de correlação e regressão linear múltipla em backward pelo Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG), versão 5.0-93 (Euclides, 1983). Foram realizadas transformações dos dados das variáveis para satisfazer aos princípios de distribuição normal de média e desvio-padrão (teste de Lilliefors) ou da homogeneidade das variâncias (teste de Cochran). Os resultados de biomassa, respiração e contagens foram transformados para logaritmo (x + 1) antes da realização da análise de variância. Para a respiração específica da biomassa e a % de C da biomassa em relação ao C-orgânico total do solo, utilizou-se a transformação arco seno da raiz quadrada de (x/100).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teores de metais

Verificou-se que todos os locais apresentaram teores totais de Cu, Pb, Cd e Zn superiores aos limites

permitidos pela União Européia que, atualmente, são em mg kg⁻¹: 140 para Cu, 300 para Pb, 3 para Cd, 300 para Zn e 150 para Cr (Chaudri et al., 1993). Os teores obtidos também foram superiores aos relatados em muitos trabalhos que avaliaram o impacto da contaminação dos solos com metais pesados sobre a população microbiana e seus processos (Doelman & Haanstra, 1984; Chander & Brookes, 1991, 1993; Chaudri et al., 1992a, b, 1993; Hirsch et al., 1993; Fließbach et al., 1994; Brookes, 1995), com exceção do Cu no local U (Quadro 2). Por outro lado, o local de referência (R) apresentou baixos teores desses metais, exceto o Cd, que estava em concentração elevada. Segundo Kabata-Pendias & Pendias (1984), o teor de Cd pode ser muito alto nas proximidades de minas e metalúrgicas que processam materiais que contêm este elemento. As concentrações de Mn e Pb no local Bd atingiram 1.625 e 1.016 mg kg⁻¹ de solo, respectivamente, evidenciando a alta contaminação desse local. O Cr e o Cd apresentaram concentrações inferiores aos demais elementos, sendo Cu, Pb, Cd e Zn os principais contaminantes da área.

Deve ser ressaltado que a contaminação nos diferentes locais ocorreu por uma fonte inorgânica (rejeito de mineração e processamento de Zn), e os limites de concentração total de metais no solo têm sido estabelecidos, principalmente, para fontes contaminantes orgânicas, como lodo de esgoto e composto de lixo, os quais podem atuar na complexação de metais, reduzindo a disponibilidade e, conseqüentemente, a toxidez destes, fornecendo, ao mesmo tempo, carbono para os microrganismos do solo (Lo et al., 1992). Assim, os limites propostos podem estar superestimados para contaminações via materiais inorgânicos, como no caso deste estudo.

Quadro 2. Quantidades de metais pesados totais e solúveis em água em amostras de solo de diversos locais influenciados por rejeitos da indústria de zinco e no local de referência

Local ⁽¹⁾	Total ⁽²⁾						Água					
	Mn	Cr	Cu	Pb	Cd	Zn	Mn	Cr	Cu	Pb	Cd	Zn
	mg kg ⁻¹ solo											
SV	133	25	446	134	53	3.042	0	0	0	0	5	155
U	287	30	68	70	26	1.483	16	0	0	0	4	165
Bd	1.625	33	887	1.016	79	11.969	0	0	6	0	2	77
ATI	758	20	808	383	92	6.526	0	0	6	0	2	68
AC	602	35	619	250	86	6.791	0	0	2	0	4	109
Bm1	797	26	865	393	109	10.372	91	0	0	0	18	726
Bm2	516	21	543	333	41	5.523	0	0	8	0	2	84
R	98	28	18	24	7	135	0	0	0	0	2	9

⁽¹⁾ Vide quadro 1. ⁽²⁾ Extraído em "Aqua regia".

A fração solúvel em água foi baixa na maioria dos locais e dos elementos, tendo Mn, Cr, Cu e Pb apresentado concentrações solúveis em água nulas em quase todos ou em todos os locais. A quantidade de Zn solúvel em água em relação à quantidade total variou de 0,6 a 11,1%, atingindo valores de até 726 mg kg⁻¹ de solo. As maiores percentagens foram encontradas nos locais sem vegetação (SV e U) e no local Bm1. O Cu apresentou baixo teor em todos os locais estudados, representando apenas 0,3 a 1,5% do Cu total na fração solúvel em água (Quadro 2). As maiores concentrações de Cu solúvel em água ocorreram nos locais ATI, Bm2 e Bd, com 6, 8 e 6 mg kg⁻¹, respectivamente. O Cd apresentou valores na fração solúvel em água que variaram de 2 a 18 mg kg⁻¹. O local Bm1 apresentou a maior fração solúvel em água de Cd com 18 mg kg⁻¹, correspondendo a 16,5% do Cd total, seguido dos locais U, SV e AC, com 4, 5 e 4 mg kg⁻¹, respectivamente. Os locais com maiores valores de pH (Quadro 1) apresentaram menores percentagens de Zn e de Cd na fração solúvel em água (Quadro 2). Por outro lado, menores valores de pH podem explicar os elevados teores solúveis em água destes elementos nos locais SV e U. Já o local Bm1, com pH 6,3, apresentou 7,0 e 16,5% do Zn e do Cd solúveis, respectivamente. Os teores de C-orgânico variaram bastante entre os locais com valores de 3,3 a 16,3 g kg⁻¹ de solo, sendo maiores nos locais Bd, ATI e AC. A textura do solo variou pouco entre os locais (Quadro 1), não havendo, portanto, um padrão que se relacionasse com a disponibilidade dos metais no solo.

Características biológicas

As características biológicas variaram consideravelmente entre os locais (Quadro 3). O conteúdo médio do C da biomassa microbiana variou de 92,4 a 725,2 mg kg⁻¹ de solo seco, situando-se em faixas de valores semelhantes ou próximas às encontradas por diversos autores (Chander &

Brookes, 1993; Valsecchi et al., 1995), e atingindo valores elevados mesmo em locais altamente contaminados como o ATI e Bd (725,2 e 306,4 mg kg⁻¹ de C no solo seco), os quais não diferiram do local R. Os locais SV e U, ambos sem vegetação, apresentaram biomassa reduzida, indicando grande impacto da contaminação, considerando seus teores elevados de Zn e de Cd solúvel em água, além de alto Mn, baixo teor de carbono e baixo pH. A cobertura vegetal também pode ter contribuído para reduzir a toxidez dos metais sobre a biomassa microbiana, uma vez que esta é favorecida na região rizosférica. Além disso, algumas plantas, por meio de processos de oxirredução, modificação do pH, formação de complexos organometálicos solúveis ou insolúveis menos tóxicos ou absorção elevada, podem reduzir a solubilidade e toxidez de metais nessa região (Baker & Brooks, 1989). Nos locais Bm1 e AC, apesar da presença de vegetação, a biomassa reduzida pode ser explicada pelo teor mais elevado de metais (Quadro 2).

A percentagem de C-microbiano em relação ao C-total do solo variou de 1,2 a 8,5%, sendo o valor 8,5% encontrado no local R, e os valores menores nos locais da área contaminada. Os locais SV e Bm1 apresentaram baixos valores (1,2%), devidos à pequena biomassa, apesar do baixo teor de C-orgânico. Os altos valores encontrados nos locais Bm2 e U devem-se às baixas concentrações de C-orgânico total nesses locais (5,33 e 3,30 g kg⁻¹, respectivamente), indicando alto grau de estresse desses locais. A elevada percentagem encontrada para o local R (8,5%) está muito acima da considerada normal por Jenkinson & Ladd (1981): entre 1 e 4% do C-orgânico total do solo. Entretanto, embora baixo o teor de C-orgânico (8,3 g kg⁻¹), a elevada biomassa nesse local pode ser explicada pela ausência de contaminação, apesar do elevado teor de Cd. O uso dessa característica como indicadora de efeitos adversos sobre a biota do solo, causados pela

Quadro 3. Características biológicas em amostras de solo dos diferentes locais influenciados por rejeitos da indústria de zinco

Característica	Local ⁽¹⁾							
	SV	U	Bd	ATI	AC	Bm1	Bm2	R
C-Biomassa ⁽²⁾	98,9 b ⁽⁸⁾	139,0 b	306,4 ab	725,2 a	135,6 b	92,4 b	220,1 ab	706,7 a
C-mic/C-org. ⁽³⁾	1,2 d	4,4 abc	2,4 bcd	5,3 ab	1,6 cd	1,2 d	4,4 abc	8,5 a
Emissão de CO ₂ ⁽⁴⁾	1,6 d	2,0 cd	11,4 ab	32,6 a	8,0 bc	10,5 ab	7,3 bcd	12,5 ab
qCO ₂ ⁽⁵⁾	1,9 b	1,9 b	5,0 ab	5,9 ab	8,7 ab	12,8 a	3,8 ab	2,2 b
Bactérias x 10 ⁵ ⁽⁶⁾	9,0 ef	69,9 b	24,0 d	62,6 bc	18,0 de	6,1 f	32,4 cd	175,0 a
Fungos x 10 ³ ⁽⁶⁾	3,5 c	17,4 ab	17,2 ab	34,0 a	6,7 bc	10,6 abc	33,9 a	27,6 a
Actinomicetos x 10 ⁴ ⁽⁶⁾	0,01 bc	0 c	37,7 a	113,0 a	2,9 a	6,2 a	1,6 ab	53,4 a
Oxidantes de amônio x 10 ¹⁽⁷⁾	0	0	15	9	0	0	0	0
Oxidantes de nitrito x 10 ⁴ ⁽⁷⁾	0 d	0,009 c	8,220 b	2500 a	0,093 c	0,013 c	0,064 c	30,100 b
Amonificadores x 10 ⁴ ⁽⁷⁾	3,0 a	2,2 a	30,1 a	1310 a	13,8 a	4,2 a	70,7 a	106 a
<i>A. amazonense</i> x 10 ³ ⁽⁷⁾	0	0	0	0	0	0	0	1,54
<i>A. lipoferum</i> e	0	0	0	0	0	0	0	17,3
<i>A. brasilense</i> x 10 ³ ⁽⁷⁾								

(¹) Vide quadro 1. (²) mg kg⁻¹ de C no solo seco. (³) g kg⁻¹ de C-microbiano/C-orgânico total do solo. (⁴) mg kg⁻¹ dia⁻¹ de CO₂ no solo seco. (⁵) µg de C-CO₂ x 10⁴ hora⁻¹ mg g⁻¹ de C-biomassa no solo seco. (⁶) Unidades Formadoras de Colônia (UFC) g⁻¹ de solo seco. (⁷) Número mais provável (NMP) g⁻¹ de solo seco. (⁸) Médias seguidas das mesmas letras, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%.

contaminação com metais pesados, tem apresentado resultados contraditórios. Chander & Brookes (1991) encontraram C-microbiano/C-orgânico, aproximadamente, duas vezes maior em solos que não receberam lodo de esgoto ou receberam lodo não contaminado em relação aos solos que receberam lodo de esgoto com elevada concentração de Cu ou Cu e Zn. Resultados semelhantes foram observados por Chander & Brookes (1993) e Valsecchi et al. (1995), enquanto Insan et al. (1996) não encontraram diferenças entre solos contaminados e não contaminados. No presente trabalho, esta característica não se mostrou boa indicadora dos efeitos da contaminação, pois três locais contaminados não diferiram de modo consistente daquele sem contaminação.

A respiração basal atingiu 32,6 mg kg⁻¹ dia⁻¹ de CO₂ no solo seco no local ATI (Quadro 3). Os locais SV e U foram os únicos contaminados que diferiram do local R, apresentando 1,6 e 2,0 mg kg⁻¹ dia⁻¹ de CO₂ no solo, respectivamente. Outros autores verificaram que a contaminação pode ter efeitos negativos, positivos ou até mesmo não influenciar a respiração do solo (Doelman & Haanstra, 1984; Brookes et al., 1986; Hattori, 1992; Bardgett & Sagar, 1994; Fließbach et al., 1994; Valsecchi et al., 1995; Insan et al., 1996).

O quociente metabólico (qCO₂) apresentou o maior valor no local Bm1, sendo cerca de 6 vezes maior do que aquele verificado no local R (Quadro 3), indicando o alto grau de estresse neste local, uma vez que alto qCO₂ indica que a população microbiana está apresentando elevado gasto de energia na sua manutenção mediante a elevação da respiração (perda de C-CO₂). Os baixos valores de qCO₂ nos

locais SV e U não diferiram entre si e do local R, em decorrência da baixa biomassa e respiração do solo, aparentemente resultantes dos vários fatores estressantes existentes nestes locais, como a ausência de vegetação, elevada contaminação e baixos valores de pH, carbono e nutrientes (Quadros 1 e 2).

Embora não tenha havido correlação entre qCO₂ e as demais características biológicas avaliadas (Quadro 4), o baixo valor de qCO₂, verificado no local R é atribuído à alta biomassa em relação à evolução de CO₂. O qCO₂, tem-se mostrado como indicador mais sensível da contaminação com metais pesados do que valores de biomassa e respiração isolados (Fließbach et al., 1994). De fato, apesar das poucas diferenças reveladas entre as médias dos locais estudados, verificou-se correlação positiva significativa entre esta característica e os teores de Zn, Cd e Cu (Quadro 5). De acordo com Anderson (1994) e Insan et al. (1996), o qCO₂ é recomendado para solos com características semelhantes, assim a heterogeneidade dos locais estudados pode explicar os resultados baseados nas médias.

O número de bactérias situou-se entre 10⁵ e 10⁷, o de fungos entre 10³ e 10⁴ e o de actinomicetos entre 0 (zero) e 10⁶ g⁻¹ de solo seco (Quadro 3).

O número de bactérias, fungos e actinomicetos cultiváveis, determinados por meio do método da inoculação de suspensões diluídas de solo em meios de cultura, tem sido utilizado para avaliar os efeitos de modificações no solo sobre estes (Hattori, 1992; Hiroki, 1992). Os valores comumente encontrados variam de 10⁴ a 10⁹, para bactérias e actinomicetos, e de 10⁴ a 10⁷ g⁻¹ de solo seco, para fungos, portanto na amplitude dos valores observados no presente

Quadro 4. Correlação entre características biológicas e teores de C orgânico nos locais estudados

Característica	C-Biomassa	Emissão de CO ₂	Amonificadores	Bactérias	Actinomicetos	Fungos	Oxidantes de nitrito	qCO ₂	C-microbiano/C-orgânico	C-orgânico
C-Biomassa	1,00									
Emissão de CO ₂	0,72*	1,00								
Amonificadores	0,83**	0,91**	1,00							
Bactérias	0,79*	0,27 ^{ns}	0,06 ^{ns}	1,00						
Actinomicetos	0,63*	0,78**	0,83**	< 0,01 ^{ns}	1,00					
Fungos	0,75*	0,61 ^{ns}	0,58 ^{ns}	0,76*	< 0,01 ^{ns}	1,00				
Oxidantes de nitrito	0,89**	0,91**	0,91**	0,59 ^{ns}	0,66*	0,75*	1,00			
qCO ₂	-0,24 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,34 ^{ns}	-0,51 ^{ns}	0,39 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,20 ^{ns}	1,00		
C-microbiano/C-orgânico	0,82*	0,36 ^{ns}	0,39 ^{ns}	0,97**	0,12 ^{ns}	0,85**	0,63*	-0,45 ^{ns}	1,00	
C-orgânico	0,54 ^{ns}	0,75*	0,76*	-0,09 ^{ns}	0,74*	0,03 ^{ns}	0,66*	0,50 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	1,00

* e **, significativos a 5 e 1%, respectivamente, pelo teste T. ^{ns} não-significativo.

Quadro 5. Correlação entre características biológicas e teores totais e solúveis em água de metais pesados no solo

Característica microbiológica	Teor							
	Total						Solúvel em água	
	Pb	Cd	Cr	Zn	Cu	Mn	Cd	Zn
C-Biomassa	0,11 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,60 ^{ns}	-0,59 ^{ns}
Emissão de CO ₂	0,39 ^{ns}	0,42 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,46 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	-0,05 ^{ns}
C-microbiano/C-orgânico	-0,30 ^{ns}	-0,66*	-0,26 ^{ns}	-0,57 ^{ns}	-0,57 ^{ns}	-0,30 ^{ns}	-0,55 ^{ns}	-0,56 ^{ns}
qCO ₂	0,38 ^{ns}	0,87**	0,10 ^{ns}	0,76*	0,75*	0,50 ^{ns}	0,65*	0,67*
Amonificadores	0,19 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,43 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,20 ^{ns}	-0,50 ^{ns}	-0,47 ^{ns}
Bactérias	-0,29 ^{ns}	-0,68*	-0,04 ^{ns}	-0,59 ^{ns}	-0,62*	-0,27 ^{ns}	-0,65*	-0,67*
Actinomicetos	0,46 ^{ns}	0,38 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,47 ^{ns}	0,52 ^{ns}	0,48 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,06 ^{ns}
Fungos	0,14 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	-0,37 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,38 ^{ns}	-0,30 ^{ns}
Oxidantes de nitrito	0,12 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	0,21 ^{ns}	-0,44 ^{ns}	-0,41 ^{ns}

* e **, significativo 5 e 1%, respectivamente pelo teste T. ^{ns} não-significativo.

estudo. O elevado número de bactérias no local U não era esperado, diante do elevado grau de degradação revelado pelo baixo pH e baixo teor de C-orgânico, elevada contaminação e ausência de vegetação. Formas de resistência ao estresse da contaminação, como a formação de endosporo, têm ocorrido em solos degradados (Cattelan & Vidor, 1990) e podem ter contribuído para tal resultado. A população de fungos cultiváveis variou menos entre os diversos locais quando comparada com a de bactérias, não diferindo os locais ATI, Bd, U, Bm1 e Bm2 do local R. Isto indica que esse grupo de microrganismos é mais tolerante ao excesso de metais e seus efeitos adversos. A menor densidade de propágulos fúngicos foi encontrada no local SV. Resultados semelhantes ao observado para os fungos ocorreram para os actinomicetos que também apresentaram menor variação entre os locais estudados. A presença de vegetação influenciou também a presença desse grupo que foi reduzido no local SV e ausente no local U.

A densidade bacteriana, indicada pelo número de unidades formadoras de colônias, foi um indicador mais sensível da contaminação do que as populações de actinomicetos e fungos, que apresentaram pequenas variações entre certos locais. Entretanto, deve-se salientar que os métodos de contagem como os aqui empregados são altamente seletivos e apenas detectam pequena parte da população com determinadas características bioquímicas e formas de crescimento (Paul & Clark, 1989). Isto pode limitar considerações mais generalizadas a respeito do impacto da contaminação sobre esses microrganismos no solo. Entretanto, os resultados apresentados concordam com observações anteriores, indicando maior tolerância dos eucariotos do que dos procaríotos à contaminação por metais pesados (Hattori, 1992; Hiroki, 1992) e, em geral, maior tolerância de actinomicetos do que de bactérias (Quadro 5), conforme também considerado por Tyler (1981).

Os oxidantes de amônio foram observados apenas nos locais Bd e ATI, enquanto os oxidantes de nitrito

ocorreram em todos os locais, com exceção do local SV. Nos locais ATI e Bd, apesar da contaminação, a presença do capim *Andropogon* sp. e da *B. decumbens*, respectivamente, pode ter contribuído para a alta densidade destes grupos em relação aos demais. Os amonificadores apresentaram densidade na ordem de 10^4 a 10^7 , porém não diferiram entre os locais. A amonificação é realizada por inúmeros heterotróficos e é influenciada por diversos fatores (Alef, 1995a). Isto pode ter contribuído para a similaridade de densidade entre os locais.

Nenhuma das espécies de *Azospirillum* estudadas (*A. amazonense*, *A. lipoferum* e *A. brasilense*) foi detectada nas amostras de solo contaminado, ao contrário do que se verificou no local de referência, indicando alta sensibilidade desse grupo de bactérias aos metais. Entretanto, estudos em andamento no laboratório de Microbiologia do Solo da UFLA confirmam tal ocorrência em raízes de plantas coletadas em locais contaminados. Os estudos sobre os efeitos adversos da contaminação de metais pesados sobre microrganismos fixadores de N_2 estão, em sua maioria, concentrados no rizóbio (McGrath et al., 1988; Chaudri et al., 1992a, b; Hirsch et al., 1993), e poucos estudos tratam dos diazotróficos de vida livre. Segundo Brookes (1995) e Lorenz et al. (1992), a contaminação com metais em concentrações próximas ou abaixo dos limites permitidos pela comunidade europeia pode causar reduções significativas na fixação de N_2 por essas bactérias.

As análises de correlação entre as características biológicas revelaram forte inter-relação entre elas (Quadro 4). A microbiomassa correlacionou-se com a respiração do solo, número de amonificadores, bactérias, actinomicetos, fungos e oxidantes de nitrito. A respiração correlacionou-se com amonificadores, actinomicetos, oxidantes de nitrito e C do solo, que parecem ter sido os principais responsáveis pela variação na emissão de CO_2 ocorrida entre os diversos locais. Diferentes resultados têm sido obtidos em estudos sobre a contribuição de grupos específicos na respiração em solos contaminados com metais pesados. Segundo Fließbach et al. (1994), a população fúngica foi responsável por mais de 80% da respiração em dois solos contaminados pela aplicação de lodo de esgoto. Entretanto, em outro estudo, verificou-se que o aumento da população fúngica coincidia tanto com a redução da evolução de CO_2 quanto com a população bacteriana, demonstrando que a respiração depende, principalmente, do grau de toxidez dos metais sobre a população bacteriana (Hattori, 1992).

As relações ecológicas entre as diferentes espécies ou grupos de microrganismos são de difícil caracterização, decorrentes dos efeitos de fatores abióticos e bióticos que causam grande variabilidade entre microssítios do solo, influenciando, direta e indiretamente, a população microbiana e suas relações, e explicam os baixos níveis de correlação

entre as características biológicas analisadas e as concentrações de metais no solo (Quadro 5). A densidade de bactérias, amonificadores, qCO_2 e relação C-microbiano/C-total correlacionaram-se com os teores totais e, ou, solúveis em água de metais pesados. A densidade de bactérias correlacionou-se negativamente com teores totais de Cd e de Cu e com teores solúveis em água de Cd e de Zn, indicando o impacto desses metais sobre esse grupo de microrganismos que, de acordo com Hattori (1992) e Hiroki (1992), são, geralmente, mais afetados pelos metais pesados que os fungos. A percentagem de C-microbiano por C-total também correlacionou-se negativamente com Cd total. O qCO_2 apresentou correlações positivas com Zn, Cu e Cd totais e com Cd e Zn na fração solúvel em água, indicando que altas concentrações desses metais causam estresses na população de heterotróficos do solo que consomem mais C para se manterem (Bardgett & Saggar, 1994; Fließbach et al., 1994; Valsecchi et al., 1995).

As poucas correlações significativas encontradas entre as características biológicas e a concentração dos metais foram também verificadas por Insan et al. (1996) e, provavelmente, são devidas a outras diferenças entre os locais estudados. Além disso, quando a contaminação ocorre com diversos metais (multicontaminação), como no caso deste estudo, a determinação dos efeitos de cada metal separadamente torna-se difícil, uma vez que os efeitos dos metais podem ser aditivos ou antagonísticos (Fließbach et al., 1994). Por isso, foi adicionalmente realizada análise de regressão linear múltipla em backward entre as características biológicas e a concentração total de cada elemento (dados não apresentados). Tal análise indicou que o Cd foi o metal que mais afetou o qCO_2 ($R^2 = 0,42^{**}$) e a respiração basal do solo ($R^2 = 0,22^*$), enquanto a população bacteriana foi afetada apenas pelo Zn ($R^2 = 0,17^{**}$).

Tais resultados evidenciam a complexidade da interação químico-biológica do solo em áreas sujeitas à multicontaminação com metais pesados. Como a reabilitação de solos degradados passa pela restauração da atividade biológica funcional (Tate, 1985), são necessários avanços no entendimento do impacto da contaminação sobre os microrganismos do solo e seus processos e da contribuição destes na remediação de solos poluídos com metais pesados.

CONCLUSÕES

1. Elevados teores totais de Zn, Cd, Pb e Cu foram encontrados em solos contaminados com rejeitos de mineração e industrialização de Zn. Os teores totais máximos desses elementos foram de 11.969, 109, 1.016 e 887 $mg\ kg^{-1}$ de solo, respectivamente.
2. As características biológicas C-biomassa, relação C-microbiano/C-orgânico solo, emissão de

CO₂, qCO₂, número de unidades formadoras de colônias de fungos, de bactérias e de actinomicetos em placas e número mais provável de oxidantes de nitrito variaram entre os locais amostrados e foram influenciados pela contaminação, pelo pH e teor de carbono do solo e pela presença de vegetação.

3. O número de amonificadores no solo não foi influenciado significativamente pela contaminação com metais pesados, enquanto *Azospirillum* spp. só foram detectadas nas amostras do local não contaminado.

4. O quociente metabólico (qCO₂) mostrou-se um indicador promissor da multicontaminação do solo por Zn, por Cd e por Cu.

LITERATURA CITADA

- ALEF, K. Nitrogen mineralization in soils. In: ALEF, K. & NANNIPIERI, P., eds. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. London, Academic Press, 1995a. p.234-245.
- ALEF, K. Soil respiration. In: ALEF, K. & NANNIPIERI, P., eds. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. London, Academic Press, 1995b. p.214-219.
- ALEXANDER, M. Most probable number method for microbial populations. In: MILLER, R. H. & KEENEY, D. R., eds. Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties. Madison, Soil Science Society of America, 1982. p.815-830.
- ANDERSON, T.H. Physiological analysis of microbial communities in soil: applications and limitations. In: RITZ, K.D. & GILLER, K.E., eds. Beyond the biomass. London, British Society of Soil Science, 1994. p.67-76.
- BAKER, A.J.M. & BROOKES, R.R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements - a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, 1:81-126, 1989.
- BARDGETT, R.D. & SAGGAR, S. Effects of heavy metal contamination on the short-term decomposition of labelled [¹⁴C]glucose in a pasture soil. *Soil Biol. Biochem.*, 26:727-733, 1994.
- BRIERLEY, C. L. Bioremediation of metal-contaminated surface and groundwaters. *Geomicrobiol. J.*, 8:201-233, 1991.
- BROOKES, P.C. The use of microbial parameters in soil pollution by heavy metals. *Biol. Fertil. Soils*, 19:269-279, 1995.
- BROOKES, P.C.; HEIJNEN, C.E.; McGRATH, S.P. & VANCE, E.D. Soil microbial biomass estimates in soils contaminated with metals. *Soil Biol. Biochem.*, 18:383-388, 1986.
- CATTELAN, A.J. & VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. *R. Bras. Ci. Solo*, 14:125-132, 1990.
- CHANDER, K. & BROOKES, P.C. Effects of heavy metals from past applications of sewage sludge on microbial biomass and organic matter accumulation in a sandy loam and silty loam U.K. soil. *Soil Biol. Biochem.*, 23:927-932, 1991.
- CHANDER, K. & BROOKES, P.C. Residual effects of zinc, copper and nickel in sewage sludge on microbial biomass in a sandy loam. *Soil Biol. Biochem.*, 25:1231-1239, 1993.
- CHAUDRI, A.M.; McGRATH, S.P. & GILLER, K.E. Metal tolerance of isolates of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* from soil contaminated by past applications of sewage sludge. *Soil Biol. Biochem.*, 24:83-88, 1992a.
- CHAUDRI, A.M.; McGRATH, S.P. & GILLER, K.E. Survival of the indigenous population of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* in soil spiked with Cd, Zn, Cu and Ni salts. *Soil Biol. Biochem.*, 24:625-632, 1992b.
- CHAUDRI, A.M.; McGRATH, S.P.; GILLER, K.E.; RIETZ, E. & SAUERBECK, D.R. Enumeration of indigenous *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* in soil previously treated with metal-contaminated sewage sludge. *Soil Biol. Biochem.*, 25:301-309, 1993.
- DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation in grass-bacteria associations in the tropics. In: Isotopes biological dinitrogen fixation: proceedings of an advisory group meeting. Vienna: IAEA, 1978. p.51-69.
- DOELMAN, P. & HAANSTRA, L. Short-term and long-term effects of cadmium, chromium, copper, nickel, lead and zinc on soil microbial respiration in relation to abiotic soil factors. *Plant Soil*, 79:317-327, 1984.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA - EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação dos Solos. Manual de métodos de análise de solo. Rio de Janeiro, 1979. não paginado.
- EUCLIDES, R.F. Sistema para análises estatísticas e genéticas: manual provisório. Viçosa, CPD/UFV, 1983. 74p.
- FLIEßBACH, A.; MARTENS, R. & REBER, H.H. Soil microbial biomass and microbial activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge. *Soil Biol. Biochem.*, 26:1201-1205, 1994.
- FORSTER, J.C. Heavy metals. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. London, Academic Press, 1995. p.101-104.
- HATTORI, H. Influence of heavy metals on soil microbial activities. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 38:93-100, 1992.
- HIROKI, M. Effects of heavy metal contamination on soil microbial population. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 38:141-147, 1992.
- HIRSCH, P.R.; JONES, M.J.; McGRATH, S.P. & GILLER, K.E. Heavy metals from past applications of sewage sludge decrease the genetic diversity of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* populations. *Soil Biol. Biochem.*, 25:1485-1490, 1993.
- INSAN, H.; HUTCHINSON, T.C. & REBER, H.H. Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora. *Soil Biol. Biochem.*, 28:691-694, 1996.
- JENKINSON, D.S. & LADD, L.N. Microbial biomass in soil measurement and turnover. In: PAUL, E.A. & LADD, J.N., eds. Soil biochemistry. New York, Marcel Dekker, 1981. v.5. p.415-471.
- JOERGENSEN, R. The fumigation extraction method. In: ALEF, K. & NANNIPIERI, P., eds. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. London, Academic Press, 1995. p.382-387.

- KABATA-PENDIAS, A. & PENDIAS, H. Trace elements in soils and plants. Boca Raton, CRC Press, 1984. 315p.
- LO, K. L.S.; YANG, W. F. & LIN, Y. C. Effects of organic matter on the specific adsorption of heavy metals by soils. *Toxicol. Environ. Chem.*, 34:139-153, 1992.
- LORENZ, S.E.; McGRATH, S.P. & GILLER, K.E. Assessment of free-living nitrogen fixation activity as a biological indicator of heavy metal toxicity in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 24:601-606, 1992.
- MAGALHÃES, F.M.; BALDANI, J.I.; SOUTO, S.M.; KUYKENDALL, J.R. & DÖBEREINER, J. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. *An. Acad. Bras. Ci.*, 55:417-430, 1983.
- McGRATH, S.P.; BROOKES, P.C. & GILLER, K.E. Effects of potentially toxic metals in soil derived from past applications of sewage sludge on nitrogen fixation by *Trifolium repens* L. *Soil Biol. Biochem.*, 20: 415-424, 1988.
- PAUL, E.A. & CLARK, F.E. *Soil microbiology and biochemistry*. San Diego, Academic Press, 1989. 273p.
- SCHMIDT, E.L. & BELSER, L.W. Nitrifying bacteria. In: MILLER, R.H. & KEENEY, D.R. *Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties*. Madison, Soil Science Society of America, 1982. p.1027-1041.
- SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; GRISI, B.M.; HUNGRIA, M. & ARAUJO, R.S. *Microrganismos e processos biológicos no solo: perspectiva ambiental*. Brasília, EMBRAPA-SPI, 1994. 142p.
- TATE, R.L. Microorganisms, ecosystem disturbance and soil-formation processes. In: TATE, R.L. & KLEIN, D.A., eds. *Soil reclamation processes*. New York, Marcel Dekker, 1985. p.1-33.
- TYLER, G. Heavy metals in soil biology and biochemistry. In: PAUL, E.A. & LADD, J.N., eds. *Soil biochemistry*. New York, Marcel Dekker, 1981. v.5. p.371-414.
- VALSECCHI, G.; GIGLIOTTI, C. & FARINI, A. Microbial biomass, activity, and organic matter accumulation in soils contaminated with heavy metals. *Biol. Fertil. Soils*, 20:253-259, 1995.
- WAKSMAN, S.A. *The actinomycetes: classification, identification and descriptions of genera and species*. Baltimore, The Williams & Wilkins, 1961. 128p.
- WOLLUM II, A.G. Cultural methods for soil microorganisms. In: MILLER, R.H. & KEENEY, D.R., eds. *Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties*. Madison, Soil Science Society of America, 1982. p.781-802.